Análisis CEDIA® THC Multinivel



IVD **Para uso diagnóstico in vitro**

REF 10016433 (3 x 17 mL Indiko Kit)
100091 (Kit de 3 x 17 mL)
100100 (Kit de 65 mL)
1661256 (Kit de 495 mL)

Indicaciones

El análisis CEDIA® THC es un dispositivo médico para diagnóstico in vitro indicado para la determinación cualitativa y semicuantitativa de canabinoides (THC) en la orina humana.

El análisis sólo ofrece un resultado analítico preliminar. Para obtener un resultado analítico confirmado debe emplearse un método químico alternativo más específico. El método de confirmación recomendado es la técnica combinada de cromatografía de gases y espectrometría de masas (CG/EM).[1] Al valorar resultados analíticos referentes a drogas, y sobre todo cuando se trata de resultados positivos preliminares, deben aplicarse consideraciones clínicas y el criterio profesional.

Resumen y explicación del análisis

La marihuana y el hachís se obtienen de la planta de cáñamo Cannabis sativa, que se cultiva en todo el mundo.[2,3] Estas drogas contienen por lo menos 61 canabinoides, un grupo de compuestos químicos que se halla exclusivamente en la planta del cáñamo, de las que el Δ^9-tetrahidrocanabinol (THC) es la sustancia más psicoactiva.[2,3] El THC tiene un efecto sedante-hipnótico suave, que puede provocar euforia, una elevada facultad de percepción y, en dosis altas, incluso alucinaciones.[2,4]

El THC es altamente liposoluble. Por ello se almacena fácilmente en el tejido adiposo, donde puede permanecer en el organismo durante varios días o incluso varias semanas.[2,3,5] Las enzimas hepáticas lo convierten rápidamente en más de 24 metabolitos, de los que el más importante es el 11-nor-Δ^9- tetrahidrocanabinol-ácido carbónico.[2-5] Aproximadamente el 70% de cada dosis de THC se elimina en la orina o las heces en las 72 horas posteriores al consumo.[4] Las concentraciones de los metabolitos de THC en orina dependen de diferentes factores, como la frecuencia del consumo precedente, el momento de la obtención de las muestras respecto al último consumo de THC, y la velocidad con que se liberan los canabinoides depositados en el tejido adiposo.[5] Después del consumo frecuente de altas dosis de THC, los análisis de orina de drogadictos pueden dar positivo durante más de un mes tras haber suprimido el consumo.[2,5]

El análisis CEDIA THC multinivel emplea la tecnología del ADN recombinante (patente estadounidense n.º 4708929) para producir un sistema único y homogéneo de enzimoinmunoanálisis.[6] Este análisis se basa en la enzima bacteriana β-galactosidasa, que se ha preparado genéticamente dividiéndola en dos fragmentos inactivos. Estos fragmentos se vuelven a asociar espontáneamente para formar una enzima totalmente activa que, en el formato del análisis, descompone un sustrato y genera un cambio de color que puede medirse mediante espectrofotometría.

En el análisis, la droga conjugada con un fragmento inactivo de la β-galactosidasa compite con la droga de la muestra en busca de un sitio de fijación de anticuerpos. Si la muestra contiene droga, ésta se fija al anticuerpo, y deja libres los fragmentos inactivos, que forman una enzima activa. Si la muestra no contiene droga, el anticuerpo se fija a la droga conjugada en el fragmento enzimático inactivo e inhibe la recombinación de los fragmentos de β-galactosidasa inactivos, impidiendo la formación de una enzima activa. La cantidad de enzimas activas formadas y el correspondiente cambio de absorbancia es proporcional a la cantidad de droga presente en la muestra.

Reactivos

- **1 Amortiguador de reconstitución de AE:** Contiene ácido 3-(N-morfolino) propanosulfónico; sales amortiguadoras y 0,56 µg/mL de anticuerpos monoclonales anti-11-nor-Δ^9-THC-COOH, estabilizador y conservante.
- **1a Reactivo de AE:** Contiene 0,171 g/L de aceptor enzimático (microbiano), sales amortiguadoras, detergente y conservante.
- **2 Amortiguador de reconstitución de DE:** Contiene ácido 3-(N-morfolino) propanosulfónico, sales amortiguadoras, estabilizador y conservante.
- **2a Reactivo de DE:** Contiene 12,42 µg/L de conjugado de donante enzimático (microbiano) conjugado a 11-nor-Δ^8-THC-COOH, 1,67 g/L derojodeclorofenol-β-D-galactopiranósido, estabilizador y conservante.

Material adicional: Etiquetas de código de barras alternativas (números de catálogo 100091 y 100100 solamente. Consulte el modo de empleo en la hoja de aplicaciones específica del analizador.) Frascos de analizador vacíos para trasvasar las soluciones de AE y DE (número de catálogo 100100). Frasco de analizador vacío para trasvasar la solución DE (número de catálogo 1661256 solamente).

Material adicional requerido (se vende por separado):

Calibrador CEDIA negativo
Calibradores CEDIA THC 25, 50, 75 y 100
Conjunto de control THC 25 , conjunto de control 50 y conjunto de control 100
Los calibradores y los conjuntos de control necesarios dependerán del umbral del análisis que se esté utilizando. Para obtener más información, véase el apartado Control de calidad y calibración.

⚠ Precauciones y advertencias

Los reactivos contienen azida sódica. Evite el contacto con la piel y las mucosas. En caso de contacto, lave las áreas afectadas con abundante agua. En caso de contacto con los ojos o de ingestión, consulte inmediatamente con un médico. La azida sódica puede reaccionar con el plomo o el cobre de las cañerías y formar azidas metálicas que pueden ser explosivas. Al desechar dichos reactivos debe enjuagarse siempre con abundante agua para evitar la acumulación de azidas. Limpie las superficies metálicas expuestas con hidróxido sódico al 10%.

Preparación y almacenamiento de los reactivos

A continuación se describe la preparación de las soluciones para los analizadores Hitachi. Para todos los demás analizadores, consulte la hoja del analizador correspondiente. Extraiga el kit del almacenamiento refrigerado (2-8°C) inmediatamente antes de preparar las soluciones. Prepare las soluciones en el orden siguiente para reducir el riesgo de una posible contaminación.

Solución de donante enzimático R2: Conecte el frasco 2a (reactivo de DE) al frasco 2 (amortiguador de reconstitución de DE) utilizando uno de los adaptadores incluidos. Mezcle los líquidos mediante una suave inversión y asegúrese de que todo el material liofilizado del frasco 2a pasa al frasco 2. Evite la formación de espuma. Separe el frasco 2a y el adaptador del frasco 2 y deséchelos. Tape el frasco 2 y déjelo reposar unos 5 minutos a temperatura ambiente (entre 15 y 25°C). Mezcle de nuevo. Anote la fecha de la reconstitución en la etiqueta del frasco.

Solución de aceptor enzimático R1: Conecte el frasco 1a (reactivo de AE) al frasco 1 (amortiguador de reconstitución de AE) utilizando uno de los adaptadores incluidos. Mezcle los líquidos mediante una suave inversión y asegúrese de que todo el material liofilizado del frasco 1a pasa al frasco 1. Evite la formación de espuma. Separe el frasco 1a y el adaptador del frasco 1 y deséchelos. Tape el frasco 1 y déjelo reposar unos 5 minutos a temperatura ambiente (entre 15 y 25°C). Mezcle de nuevo. Anote la fecha de la reconstitución en la etiqueta del frasco.

Número de catálogo 100100, analizador Hitachi 717, 911, 912 ó 914: Trasvase los reactivos reconstituidos a los frascos de 100 mL vacíos R1 y R2 correspondientes suministrados con el kit. **Analizador Hitachi 917 y Sistema Modular Analytics P:** Utilice los reactivos reconstituidos sin trasvasar los frascos.
Número de catálogo 1661256, analizador Hitachi 747 y Sistema Modular Analytics D: Trasvase una parte de la solución R2 mediante el embudo al frasco vacío, con etiqueta correspondiente, para R2.

NOTA 1: Los componentes suministrados en este kit están concebidos para utilizarse como una unidad integral. No mezcle componentes de lotes diferentes.
NOTA 2: Para evitar la contaminación cruzada de los reactivos, no intercambie los tapones de los frascos de reactivo. La solución R2 debe presentar un color amarillo naranja. Un color rojo oscuro o rojo púrpura indica que el reactivo está contaminado y debe desecharse.
NOTA 3: Antes de realizar el análisis, las soluciones R1 y R2 deben estar a la temperatura de almacenamiento del compartimiento de reactivos del analizador. Para obtener más información, consulte la hoja de aplicaciones específica del analizador.
NOTA 4: Para garantizar la estabilidad de la solución de AE reconstituido, evite la exposición continuada y prolongada a luz brillante.

Almacene los reactivos a entre 2 y 8°C. **NO LOS CONGELE.** Para determinar la estabilidad de los componentes sin abrir, consulte la fecha de caducidad en las etiquetas de la caja o del frasco.

Solución R1: 60 días refrigerada en el analizador a entre 2 y 8°C.
Solución R2: 60 días refrigerada en el analizador a entre 2 y 8°C.

Obtención y manipulación de muestras

Obtenga muestras de orina en recipientes limpios de cristal o plástico. Las muestras muy turbias deben centrifugarse antes del análisis. Trate la orina humana como material potencialmente infeccioso. Si se sospecha que la muestra puede estar adulterada, obtenga otra muestra para el análisis. La adulteración de las muestras de orina puede afectar a los resultados del análisis.

Las pautas indicadas en *The Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Programs; Final Guidelines; Notice* recomiendan que las muestras que no se analicen en los 7 días posteriores a su llegada al laboratorio se conserven en unidades de refrigeración seguras.[7]

Procedimiento del análisis

Para la realización de este análisis pueden utilizarse analizadores químicos capaces de mantener una temperatura constante, pipetear muestras, mezclar reactivos, medir índices enzimáticos y cronometrar la reacción de manera precisa. Microgenics, parte de Thermo Fisher Scientific puede suministrar hojas de aplicación con los parámetros específicos de los instrumentos.

Se suministran etiquetas de códigos de barras adicionales para la determinación semicuantitativa con los kits de 17 mL y 65 mL solamente. Para emplearlas, pegue la etiqueta correcta a cada frasco.

Control de calidad y calibración[8]

Análisis cualitativo

Para el análisis cualitativo, utilice el calibrador CEDIA THC 25, 50 ó 100 ng/mL (según el cutoff seleccionado) para el análisis de los resultados. Si se emplean analizadores Hitachi, coloque el calibrador con el cutoff seleccionado en la posición estándar seleccionada por el usuario. Entre S1 ABS como cero y el factor K como 1000 en la ventana "Monitor de calibración/Lista de calibración/Informaciones de trabajo". Si se emplean otros analizadores, consulte la hoja de aplicaciones específica del analizador.

Análisis semicuantitativo

Para la evaluación semicuantitativa, utilice el calibrador THC 50 ng/mL junto con los calibradores negativos, 25, 75 y 100. En los analizadores Hitachi los calibradores se colocan en la posición estándar apropiada seleccionada por el usuario. Si se emplean otros analizadores, consulte la hoja de aplicaciones específica del analizador. Volver a calibrar el análisis si se cambian los reactivos o si los resultados de los controles exceden los límites fijados.

Las prácticas correctas de laboratorio recomiendan analizar los controles cada día que se analicen las muestras y cada vez que se realice una calibración. Se recomienda efectuar dos niveles de controles: uno 25% por encima y otro 25% por debajo del valor de cutoff elegido. Base la evaluación del control de calidad en los valores obtenidos con los controles, que deben estar dentro de los límites especificados. Si se detectan tendencias o cambios repentinos de los valores, revise todos los parámetros operativos. Para obtener más ayuda, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica al cliente. Todos los requisitos de control de calidad deben realizarse de acuerdo con las normas o los requisitos de acreditación locales, estatales o federales.

Resultados y valores esperados

Resultados cualitativos

El calibrador CEDIA THC 25, 50 ó 100 ng/mL se utiliza como referencia para distinguir entre las muestras positivas y las negativas. Las muestras que produzcan valores de respuesta iguales o superiores al valor de respuesta del calibrador se consideran positivas. Las muestras que produzcan valores de respuesta inferiores al valor de respuesta del calibrador se consideran negativas. Para obtener más información, consulte la hoja de aplicaciones específica del analizador.

Resultados semicuantitativos

El calibrador CEDIA THC 50, utilizado junto con el calibrador negativo y los demás calibradores de THC, puede utilizarse para estimar la concentración relativa de THC. Consulte la hoja de aplicaciones específica del analizador para obtener más detalles.

En el cálculo de la concentración deben tenerse en cuenta factores que puedan influir en el resultado de los análisis de orina, como pueden ser la ingestión de líquidos y otros factores biológicos.

Limitaciones

1. Un resultado positivo en el análisis indica la presencia de canabinoides; no indica ni mide la intoxicación.
2. Existe la posibilidad de que otras sustancias o factores no mencionados interfieran en el análisis y causen resultados falsos (p. ej., errores técnicos o de procedimiento).

Características específicas de rendimiento

A continuación se muestran los resultados de rendimiento típicos obtenidos con el analizador Hitachi 717.[9] Los resultados obtenidos en su laboratorio pueden ser distintos a estos datos.

Precisión

Los estudios de la precisión medida realizados con reactivos, calibradores y controles envasados arrojaron los siguientes resultados en mA/min con un analizador Hitachi 717 siguiendo las pautas de realización del experimento de repeticiones NCCLS modificado.

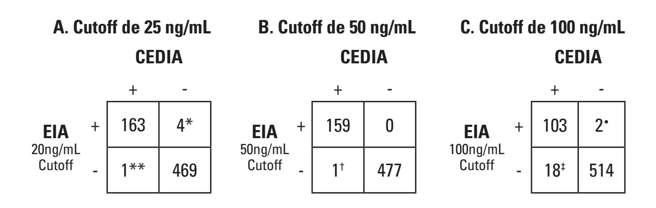
Umbral de 25 ng/mL	Precisión en la serie			Precision total		
ng/mL	20	25	30	20	25	30
n	120	120	120	120	120	120
$\bar{x}$	373,3	456,14	556,0	373,3	456,1	556,0
SD	3,07	4,67	4,36	13,61	15,20	16,97
%CV	0,9	1,0	0,8	3,6	3,3	3,1

Umbral de 50 ng/mL	Precisión en la serie			Precision total		
ng/mL	40	50	60	40	50	60
n	120	120	120	120	120	120
$\bar{x}$	391,2	479,5	584,8	391,2	479,5	584,8
SD	3,20	4,95	5,18	14,41	16,42	17,73
%CV	0,8	1,0	0,9	3,7	3,4	3,0

Umbral de 100 ng/mL	Precisión en la serie			Precision total		
ng/mL	75	100	125	75	100	125
n	120	120	120	120	120	120
$\bar{x}$	393,1	505,5	624,7	393,1	505,5	624,7
SD	4,20	6,45	6,05	14,47	16,67	17,99
%CV	1,1	1,3	1,0	3,7	3,3	2,9

Exactitud

Se analizaron 637 muestras de orina en el analizador Hitachi 717 con el análisis CEDIA THC, utilizando un enzimoinmunoanálisis (EIA) de tipo comercial como referencia. Los resultados se detallan a continuación:



A. Cutoff de 25 ng/mL

EIA 20ng/mL Cutoff	CEDIA +	CEDIA -
+	163	4*
-	1**	469

B. Cutoff de 50 ng/mL

EIA 50ng/mL Cutoff	CEDIA +	CEDIA -
+	159	0
-	1†	477

C. Cutoff de 100 ng/mL

EIA 100ng/mL Cutoff	CEDIA +	CEDIA -
+	103	2•
-	18‡	514

* El análisis de las muestras mediante CG/EM indicó que contenían 4-13 ng/mL de 11-nor-Δ^{9}-THC COOH.
** El análisis de la muestra mediante CG/EM indicó que contenía menos de 3 ng/mL de 11-nor-Δ^{9}-THC COOH.
† El análisis de la muestra mediante CG/EM indicó que contenía menos de 28 ng/mL de 11-nor-Δ^{9}-THC COOH.
‡ El análisis de las muestras mediante CG/EM indicó que contenían 40-104 ng/mL de 11-nor-Δ^{9}-THC COOH.
• El análisis de las muestras mediante CG/EM indicó que contenían 44-51 ng/mL de 11-nor-Δ^{9}-THC COOH.

Especificidad

Al analizar los siguientes compuestos originales y metabolitos con el análisis CEDIA THC, se obtuvieron los siguientes resultados de reactividad cruzada:

Sustancia	Concentración analizada (ng/mL)	Reacción cruzada %
11-nor-Δ^{9}-THC-COOH	50	100
11-nor-Δ^{8}-THC-COOH	40	125
Δ^{9}-THC	500	10,4
11-OH-Δ^{9}-THC	125	43
8ß-OH-Δ^{9}-THC	1000	2,8
8ß, 11-di-OH-Δ^{9}-THC	5000	8,4
1--Δ^{9}-THC-Glucuronide	62	78
Cannabinol	1000	2,9
Cannabidiol	1000	< 0,1

Se analizaron compuestos no relacionados estructuralmente mediante el análisis CEDIA THC (cutoff de 50 ng/mL), y se obtuvieron respuestas negativas cuando se probaron las concentraciones indicadas a continuación.

Sustancia	Concentración (ng/mL)	Sustancia	Concentración (ng/mL)
Acetaminofeno	500 000	Fenobarbital	500 000
Ácido acetilsalicílico	500 000	Fluoxetina	500 000
Ácido salicilico	500 000	Ibuprofen	500 000
Amoxicilina	100 000	Levotiroxina	50 000
Anfetamina	500 000	Metadona	500 000
Benzoylecgonine	500 000	Metanfetamina	500 000
Captopril	500 000	Morfina	100 000
Clordiacepóxido	100 000	Nifedipina	500 000
Cimetidina	500 000	Propoxifeno	500 000
Codeína	500 000	Ranitidina	500 000
Diacepam	500 000	Secobarbital	500 000
Digoxina	100 000	Tolmetin	500 000
Enalapril	500 000	Verapamil	500 000
Fenciclidina	500 000		

Nota: Un metabolito del fármaco anti-VIH Sustiva (anteriormente conocido como DMP 266) puede causar falsos resultados positivos en el análisis CEDIA THC.

No se observaron interferencias de las siguientes sustancias añadidas a las concentraciones endógenas normales encontradas en orina cuando se analizaron con el análisis CEDIA THC:

Substanz	Kozentration	Substanz	Kozentration
Acetone	≤ 1,0 g/dL	Etanol	≤ 1,0 g/dL
Ácido ascorbico	≤ 1,5 g/dL	Galactosa	≤ 10 mg/dL
Ácido ossalico	≤ 0,1 g/dL	Gamma globina	≤ 1,0 g/dL
Albúmina de suero humano	≤ 1,0 g/dL	Glucosa	≤ 3,0 g/dL
Cloruro sódico	≤ 1,0 g/dL	Riboflavina	≤ 7,5 mg/dL
Creatinina	≤ 0,5 g/dL	Urea	≤ 6,0 g/dL
Emoglobina	≤ 0,3 g/dL		

Sensibilidad

El límite de detección (LDD) de la aplicación cualitativa fue 1,3 ng/mL, 2,1 ng/mL y 5,0 ng/mL con los protocolos de cutoff de 25 ng/mL, 50 ng/mL y 100 ng/mL, respectivamente. El límite de detección (LDD) de la aplicación semicuantitativa fue 11,8 ng/mL.

Bibliografía

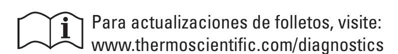
1. Hawks, R.L. Analytical methodology. In: Hawks, R.L., Chiang, CN, (Hrsg.) Urine Testing for Drugs of Abuse. NIDA Research Monograph 73 (1986) 30-41
2. Julien RM. A Primer of Drug Action. 6. Auflage. WH Freeman & Co New York 1992
3. Chiang CN, Barnett G. Marijuana pharmacokinetics and pharmacodynamics. In: Redda KK, Walker CA, Barnett G, (Hrsg.): Cocaine, Marijuana, Designer Drugs: Chemistry, Pharmacology, and Behavior. Boca Raton FL: CRC Press Inc., 1989.
4. Baselt RC, Cravey RH. Disposition of Toxic Drugs and Chemicals In Man. 3. Auflage. Year Book Medical Publishers, Chicago 1989.
5. Hawks RL, Chiang CN. Examples of specific drug assays. In: Hawks RL, Chiang CN, (Hrsg.) Urine Testing for Drugs of Abuse. NIDA Research Monograph. 73 (1986) 84-92.
6. Henderson, DR, Friedman, SB, Harris JD. et al. CEDIA, a homogeneous immunoassay system. Clin Chem. 32 (1986) 1637-1641.
7. Notice of Mandatory Guidelines for Federal Workplace Drug Testing Program; Revised mandatory guidelines, Federal Register. 1994; 110 (June 9): 11983. (Revised Guidelines expected in 2002).
8. Datos sobre trazabilidad archivados en Microgenics Corporation, parte de Thermo Fisher Scientific.
9. Datos archivados en Microgenics Corporation, parte de Thermo Fisher Scientific.



Microgenics Corporation
46500 Kato Road
Fremont, CA 94538 EE.UU.
Servicio al cliente y de
asistencia técnica en EE.UU:
1-800-232-3342



EC REP
Thermo Fisher Scientific Oy
Ratastie 2, P.O. Box 100
01621 Vantaa, Finland
Tel: +358-9-329100
Fax: +358-9-32910300



Otros países:

Póngase en contacto con su representante local de Thermo Fisher Scientific.



10006559-3-ES
2014 06